AUS DEM BAD. UNTERSUCHUNGSAMT
DER UNIVERSITÄT FREIBURG I. BR.
(LEITER: PROFESSOR DR. A. NISSLE)

Über den Keimgehalt sowie das Coli- und Tetanusvorkommen im Waldboden des Hochschwarzwaldes

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE DER ZAHNHEILKUNDE DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT ZU FREIBURG IM BREISGAU

Verfaßt und vorgelegt von

KARL DRESCHER, Zahnarzt
aus Waldgirmes-Wetzlar

1936

Buchdruckerei Th. Kehrer, Freiburg i. Br., Hauptstr. 71

Referent: Prof. Dr. Nissle.
Dekan: Prof. Dr. Wegner.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen Fakultät Freiburg im Breisgau.

MEINER LIEBEN MUTTER

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543125_0126

Einleitung.

Wenn ein unbefangener Untersucher die einschlägige Literatur über den Bakteriengehalt des Bodens durchsieht, so muß ihm die Tatsache auffallen, wie verhältnismäßig wenige Arbeiten sich mit dieser Frage beschäftigen. Besonders gilt dies für den Waldboden, während über den Bakteriengehalt des bebauten Bodens wir immerhin einigermaßen unterrichtet sind.

Und doch dürften Verteilung und Lebensbedingungen der Bakterien im Erdboden nicht nur theoretisches, sondern auch praktisches Interesse beanspruchen. So ist es mit Rücksicht auf die Trinkwasserversorgung sicherlich nicht unwichtig, genauere Kenntnis über die Häufigkeit des Vorkommens und die Verbreitung des Bacterium coli im Waldboden zu besitzen.

Von noch größerem Interesse ist die Frage des Vorkommens von Tetanuserregern im Waldboden. Verletzungen bei Wald- und Holzarbeitern sind keine Seltenheit, und eine genaue Kenntnis der Häufigkeit und Verbreitungsweise des Tetanuserregers setzt uns in die Lage, in gefährdeten Gegenden prophylaktische Maßnahmen, wie Serumeinspritzung der Verletzten, durchzuführen.

Aber es ist bekannt, daß nach Seruminjektion schwere Reaktionen auftreten können. Deshalb würde eine allgemein durchgeführte prophylaktische Serumeinspritzung ohne Rücksicht auf die tatsächlich bestehende Infektionsmöglichkeit, angesichts der Gefahren, die sie in sich schließt, nur dann in Kauf genommen werden können, wenn andernfalls die Möglichkeit oder Wahrscheinlichkeit einer weit schwerwiegenderen Tetanusinfektion vorliegt. Wie die Erfahrung zeigt, kann es sogar in einem verhältnismäßig nicht so geringen Prozentsatz der Fälle bei der Serumprophylaxe des Tetanus zum Auftreten der Serumkrankheit kommen, die für den Verletzten nicht nur eine Belästigung darstellt, sondern durch die Erscheinungen des anaphylaktischen Schockes gefährlich werden kann. So fand Schaer in neuester Zeit bei der Bearbeitung der Ergebnisse einer etwa 1000 Fälle umfassenden Umfrage über die Häufigkeit des Auftretens der Serumkrankheit nach prophylaktischen Seruminjektionen, daß in etwa 10% der Fälle mit dem Auftreten der Serumkrankheit gerechnet werden kann. In seltenen

Fällen beobachtet man nur eine belanglose Lokalreaktion an der Einstichstelle. Daß diese anaphylaktischen Erscheinungen durchaus nicht immer harmlos zu verlaufen pflegen, ersehen wir z. B. auch aus der Mitteilung von Loewe, die sich auf die Ergebnisse einer Rundfrage bei allen wichtigeren deutschen Krankenanstalten stützt. Von 147 Fällen von anaphylaktischem Schock nach prophylaktischen Tetanusseruminjektionen endeten 8 tödlich, so daß Loewe die Meinung ausspricht, daß eine wahllose prophylaktische Serumeinspritzung nicht gerechtfertigt ist und sich nur auf Verletzungen zu beschränken hat, die in Bezirken stattfinden, welche sich durch eine relative Häufigkeit des Vorkommens von Tetanuserkrankungen auszeichnen. Dort wo sich seit Jahren keine Tetanuserkrankungen mehr gezeigt haben, glaubt Loewe auf eine Tetanusprophylaxe mit Rücksicht auf die ihr anhaftenden Gefahren verzichten zu können.

Die Abhängigkeit der Häufigkeit der Tetanuserkrankungen von den geologischen Verhältnissen und der Bodenbeschaffenheit ist schon frühzeitig erkannt worden. So fand Loewe in seiner oben zitierten Arbeit, daß die geographische Verbreitung des Tetanus in Deutschland in weitgehendem Maße durch die geologische Beschaffenheit der verschiedenen Gebiete beeinflusst wird. Es waren dabei durchaus nicht die stark gedüngten Ackerbaugebiete, welche eine besondere Tetanusgefahr in sich bargen. In manchen Ackerbaugebieten, so z. B. in dem fast rein agrarischen Ostfriesland und auch den Niederlanden, kommt der Tetanus so gut wie gar nicht vor, während er in Industriegebieten, mit Ausnahme der Kohlenbergbaubezirke, viel häufiger beobachtet wird. Loewe glaubt deshalb, daß die Düngung des Bodens im Verein mit einer dem Tetanuserreger förderlichen geologischen Beschaffenheit des Bodens auf die Tetanusverbreitung begünstigend wirken kann. Young fand bei seinen Untersuchungen während der Jahre 1901 bis 1909 über die Verbreitung des Tetanus in England und Wales, daß die größte Tetanushäufigkeit die südlichen Teile des Midlands aufweisen, die auf Kreide liegen. Diese Tatsache ist bemerkenswert im Hinblick auf die von Bullock und Cramer gemachte Beobachtung, daß Kalksalze das Angehen einer Tetanusinfektion begünstigen sollen. Young glaubt allerdings daß die in diesen Gebieten intensiv betriebene Landwirtschaft nicht unwesentlich für die starke Verbreitung des Tetanus verantwortlich zu machen ist. Auch Kunz fand für Oesterreich eine regionäre Verschiedenheit in der Ausbreitung des Tetanus. An der Spitze stand die Steiermark, wo die Zahl der durch Tetanus verursachten Todesfälle sogar größer war als die Zahl der Typhustodesfälle.

Daß gerade die mit dem Erdboden in besonders innige Berührung kommenden Berufe einer Tetanuserkrankung sehr stark ausgesetzt sind, wobei den beruflichen oder gelegentlichen Verletzungen eine wichtige Rolle zukommt, ist ebenfalls durch zahlreiche Untersucher einwandfrei erwiesen worden. Die Zahl der Tetanusinfektionen, die in einem sehr hohen Prozentsatz der Fälle zum Tode führen, ist dabei durchaus nicht gering. So wurden nach der oben erwähnten Statistik von Kunz in 62 österreichischen Krankenanstalten während eines 4jährigen Zeitraums von 1928 bis 1932 478 Fälle von Tetanus beobachtet, von denen 202 tödlich endeten. Von Bakay und von Klimko stellten in Ungarn für einen Zeitraum von 4½ Jahren 1362 Tetanusfälle zusammen, von denen 1194 Landarbeiter oder Angehörige derselben waren. 724 Fälle nahmen ihren Ausgang von Wunden der Füße oder Zehen, so daß Bakay und Klimko für die Hälfte der Fälle den Tetanus als eine Schuhfrage betrachten. Bodewig sah von 135 im Rheinland beobachteten Fällen 80 (= 59%) von Verletzungen ausgehend. Interessant ist es auch, daß nach den Mitteilungen von Hill der Tetanus in den Tropen 5—6mal häufiger vorzukommen scheint, als in den gemäßigten Zonen und auch eine weit höhere Mortalität aufweist. Während nach Hill in den gemäßigten Zonen die wärmere Jahreszeit von Mai bis Oktober besonders bevorzugt ist, trifft man den Tetanus in den Tropen zu jeder Jahreszeit gleich häufig an. Man wird mit der Annahme nicht fehlgehen, wenn man diese größere Häufigkeit des Tetanus in den Tropen und seine gleichmäßige Verteilung über das ganze Jahr mit dem in diesen Gebieten üblichen Barfußgehen und der dadurch bedingten erhöhten Möglichkeit von Fußverletzungen und Erdinfektionen der Fußwunden in Zusammenhang bringt. Für unsere Breiten kommt ein Barfußgehen nur in der wärmeren Jahreszeit in Betracht. Diese Tatsache dürfte für die Erklärung der von Hill gemachten Beobachtungen sicher ebenfalls nicht bedeutungslos sein.

Aber nicht nur für die Friedensverhältnisse dürften die Verbreitung und die Häufigkeit des Vorkommens der Tetanuserreger im Boden verschiedener Gebiete von Bedeutung sein, sondern auch für den Kriegsfall gewinnen diese Verhältnisse besonderes Interesse. War doch im letzten Kriege die Zahl der Tetanuserkrankungen und Todesfälle, besonders in der ersten Zeit vor Einsetzen einer systematischen Tetanusprophylaxe, eine sehr beträchtliche. Dabei zeigte es sich ebenfalls, daß die Verletzungen auf den verschiedenen Kriegsschauplätzen verschieden häufig von Tetanuserkrankungen gefolgt waren. So berichtet Madelung im Jahre 1914

über die Ergebnisse einer Zusammenstellung aus 80 Lazaretten aus Straßburg und Umgebung, mit einer Gesamtverwundetenzahl von 27 677: Tetanuserkrankungen wurden 174 mal, d. h. in 6,6‰ aller Fälle beobachtet; 103 mal schloß sich der Ausbruch des Tetanus an Verletzungen der unteren Extremitäten an; von 166 näher bezeichneten Tetanuskranken starben 115. Die Zahl der Todesfälle an Tetanus betrug 14% der Gesamtzahl der Todesfälle. Pribram beobachtete während der ersten 5 Kriegsmonate 28 Tetanusfälle bei insgesamt 8200 verwundeten österreichischen Soldaten. Die meisten und am schwersten verlaufenden Fälle stammten von den Schlachtfeldern in der Gegend von Krakau. Pribram glaubt, daß die Häufigkeit und Schwere des Tetanus sich zum Teil auf die Beschaffenheit des Schlachtfeldterrains und die Art der Kriegsführung zurückführen lässt. Die Mortalität belief sich auf zwei Drittel der Fälle. Bruce fand bei 1 247 000 Verwundeten im Zeitraum von 1914—1918 1548 Tetanusfälle = 1,2‰. Besonders ungünstig waren die Verhältnisse in den ersten Kriegsmonaten. So betrug im August 1914 die Zahl der Tetanuserkrankungen 3,7‰ der Gesamtzahl der Verwundeten; im September 1914 stieg diese Zahl sogar auf 9‰; erst als eine systematische Serumprophylaxe durchgeführt war, sank die Zahl auf 1,4‰ und sogar darunter.

Man ersieht somit aus diesen Ausführungen, welch große, nicht nur theoretische, sondern auch praktische Bedeutung der Kenntnis der Häufigkeit in der Verbreitungsweise der Bodenbakterien und insbesonderem des Bacterium coli und des Tetanuerregers zukommt.

Die vorliegende Arbeit will auf Grund eigener Erhebungen versuchen, einen Beitrag dazu zu liefern und die Lücke in unseren Kenntnissen auf diesem Gebiet schließen zu helfen. Ehe aber die eigenen Befunde mitgeteilt werden, soll noch ein kurzer Ueberblick über die verschiedenen Methoden der Keimzahlbestimmungen im Erdboden und die bis jetzt erzielten Untersuchungsergebnisse gegeben werden.

Untersuchungsmethoden.

Die Methodik des Nachweises von Bodenorganismen geht auf R. Koch zurück. In seiner Veröffentlichung aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt im Jahre 1881, die den Titel „Zur Untersuchung von pathogenen Mikroorganismen" trägt, weist er auf die Tatsache hin, daß die Untersuchung von Bodenproben auf ihren

Gehalt an entwicklungsfähigen Keimen im allgemeinen sich verhältnismäßig einfach gestaltet. Es bedarf dazu keiner besonderen Vorbereitungen. Die Probe wird strichweise und so, daß die einzelnen Partikelchen nicht zu gehäuft liegen, auf Objektträgern, die einen Ueberzug von Nährgelatine haben, ausgestreut. Soll das nachträgliche Eindringen von Luft ganz ausgeschlossen werden, dann müsste eine ähnliche Vorrichtung, wie die bei der Luftuntersuchung übliche, gebraucht werden. Eine Verwechslung der mit der Erde ausgesäten Keime mit eventuell später darauf gefallenen wäre übrigens kaum möglich, weil die aus ersteren entstehenden Kolonien stets ihren Ausgangspunkt von den Sandkörnern und Erdbrocken nehmen. Für diese Untersuchungen hielt er Nährgelatine von Weizeninfus oder Fleischinfus mit Peptonzusatz für besonders geeignet.

Diese von R. Koch erstmalig angegebene Methodik zum Nachweis von Bodenorganismen erfuhr dann im Laufe der Zeit eine fortschreitende Entwicklung. In eingehender Weise ist dieses von Schwarz geschildert worden.

Die Entnahme von Bodenproben geschieht nach Fränken von der Oberfläche oder aus oberflächlichen Schichten mittels eines sterilisierten kleinen Platinlöffels bekannten Inhaltes oder auch mittels eines sterilen Spatels. Nach Beumer werden auch sterile Reagenzgläser oder Kölbchen direkt mit Bodenproben angefüllt. Aus tieferen Schichten erfolgt Entnahme der Proben am besten mittels eines Erdbohrers, wie ihn Fränken, Nowacki, Borchardt, Davids, Nagel, Blytt u. a. angegeben haben.

Die Bestimmung der Keimzahl geschieht wohl am häufigsten und am besten nach der sog. Plattenmethode, wie sie zuerst von R. Koch angegeben wurde und dann von Hiltner und Störmer eine Modifikation erfuhr. Ihr Wesen besteht in der Anlegung von Kulturen auf verschiedenen Nährböden und ihrer Auszählung. Da der Erdboden sehr reich an verschiedenen Keimen, zum Teil aeroben und zum Teil anaeroben ist, gibt eine direkte Aussaat keine verwertbaren Resultate. Die Bodenproben müssen vielmehr stets entsprechend verdünnt werden; auch hat die Untersuchung am besten unmittelbar nach der Entnahme stattzufinden. Wo das aus dem einen oder anderen Grunde nicht möglich ist, ist dafür Sorge zu tragen, daß die Proben bei niederer Temperatur aufbewahrt werden.

Die zu untersuchende Bodenprobe wird gesiebt und in ein niedriges, breites Wägegläschen von 10 ccm Inhalt gefüllt und gewogen. Mit einem kleinen Platinwürfel wird von verschiedenen

Stellen der Bodenprobe im ganzen ½ Gramm entnommen, diese wägegleich geschlossen und wieder gewogen. Der Platinlöffel wird im Aufschwemmungswasser abgespült. Dann wird der Wassergehalt der Erdprobe bestimmt, um vergleichbare Untersuchungsergebnisse zu erreichen. Dies geschieht durch Trocknung der Probe bei 100° und Wägung der Erdprobe vor bezw. nach der Trocknung. Der gefundene Feuchtigkeitsgehalt der Erdproben wird, in Prozenten ausgedrückt, neben die ermittelte Keimzahl gesetzt. Eine Reduktion auf das trockene Erdgewicht erfolgt nicht. Die Keimzahl wird besser auf die Gewichtseinheit (1 g) bezogen als auf die Volumeneinheit (1 ccm), weil die Volumeneinheit zu sehr von der Lagerungsdichtigkeit abhängt, wodurch sich große Fehlerquellen ergeben können.

Die etwa ½ Gramm wiegende, auf Dezimalgramme genau bestimmte Erdprobe wird mit 50 ccm sterilem Leitungswasser etwa 200 mal durchgeschüttel und dann 1 ccm dieser Aufschwemmung in 100 ccm sterilem Leitungswasser verteilt. So ergibt sich dann bei der Aussaat des letzten Kölbchens eine Verdünnung von 1 : 4000. Bei einer angenommenen Keimzahl der Ackererde von 5 000 000 Keimen ergibt sich also ein Wachstum von etwa 125 Keimen im letzten Kölbchen. Es ist nicht zweckmäßig, diese Zahl zu überschreiten, weil sonst die Auszählung der Keime zu schwierig wird.

Die Verwendung von sterilem Leitungswasser als Verdünnungsmittel erscheint aus dem Grunde angebracht, weil dadurch am besten wohl die durch Aenderung der osmotischen Verhältnisse bedingten Schädigungen der Mikroflora, die einen zu geringen Keimgehalt ergeben könnte, vermieden werden. Es muss allerdings bemerkt werden, daß durchaus nicht von allen Untersuchern das Leitungswasser zur Verdünnung der Erdproben verlangt wird. So gebraucht Thiele physiologische Kochsalzlösung, die er zusammen mit der entsprechenden Bodenprobe 20 Minuten lang durchschüttelt. Fischer mischt 100 g der Bodenprobe mit 500 ccm einer 0,6%igen Kochsalzlösung, die auch bei den weiteren Verdünnungen, die im Verhältnis von 1 ccm der jeweilig letzten Aufschwemmung zu 99 ccm der Kochsalzlösung, erfolgt.

Die Verwendung von destilliertem Wasser zur Verdünnung der Bodenproben erscheint nicht zweckmäßig, da dadurch eine weitgehende Schädigung der Bodenkeime verursacht werden kann, die zu falschen Zählergebnissen führt.

Als geeignete Nährböden für die Aussaat kommen in erster Linie Gelatine und Agar in Frage.

Die Gelatine hat den Vorzug der leichten Handhabung; sie scheidet auch kein Kondenzwasser aus. Viele Bodenbakterien zeigen auf ihr ein charakteristisches Wachstum, so daß sie verhältnismäßig leicht zu bestimmen sind. Auch ist die Gelatine bei schwach-alkalischer Reaktion kein günstiger Nährboden für die die Bodenprobe verunreinigenden Pilze. Als ein Nachteil der Gelatine ist ihre Verflüssigung durch peptonisierende Bakterien anzusehen; auch ist die Zusammensetzung nicht immer gleichmäßig. Eine Reihe von Bakterien wächst endlich überhaupt nicht auf Gelatinenährböden.

Den Nachteil der Verflüssigung kann man nach Hiltner und Störmer durch Ueberstreichen der verflüssigten Kolonien mit dem Höllensteinstift bis zu einem gewissen Grade ausschalten. Durch dieses Vorgehen wird das Wachstum der betreffenden Bakterienkolonien sistiert. Allerdings muß der Nährboden einen ausreichenden Gehalt an Chloriden aufweisen, damit sich Chlorsilber bilden kann, weil sonst die Gefahr der Weiterverbreitung des Silbers besteht, wodurch das Bakterienwachstum auf der ganzen Platte verhindert wird. Nach Gruber ist die Verwendung von Kalium-per-manganat vorzuziehen, das in dem Nährboden sofort nach vollbrachter Wirkung zu einer harmlosen Verbindung reduziert wird.

Die nicht gleichmäßige Zusammensetzung der Gelatinenährböden kann bei Serienuntersuchungen dadurch ausgeschaltet werden, daß man eine größere Menge Nährböden zu gleicher Zeit herstellt. Dabei muß auch auf eine gleichmäßige Alkaleszenz derselben besonders geachtet werden.

Der Agar hat den Vorzug, überhaupt nicht verflüssigt zu werden. Er bleibt doch im Gegensatz zu der Gelatine bei höheren Temperaturen stark, ist chemisch ziemlich indifferent und eignet sich deshalb besonders für Spezialnährböden. Sein Nachteil ist seine hohe Erstarrungstemperatur, wodurch er ungünstig auf manche Bakterien wirken kann. Das Wachstum der einzelnen Bakterienarten ist auf Agarnährböden meist weniger charakteristisch als auf Gelatine; auch wird es vielfach durch Sauerstoffwachstum beschränkt. Nachteilig ist auch die Wasserausscheidung bei Agarnährböden, die ein vorsichtiges Aufstellen und einen porösen Plattendeckel notwendig machen. Trotz dieser Nachteile ist aber der Agar häufiger im Gebrauch als die Gelatine.

Die Bebrütung der angelegten Plattenkulturen erfolgt bei der Temperatur von 18—20° während 8—10 Tagen. Bei Gelatineplatten ist eine so lang ausgedehnte Bebrütung infolge der Verflüssigung durch die in den Bodenproben fast stets vorhandenen

peptonisierenden Bakterien in der Regel ohne Anwendung des Silbernitratstiftes bezw. Kaliumpermanganatlösung nicht möglich.

Außer der Fleischwasser- oder Fleischwasserextraktgelatine bezw. Agar kommen auch noch besondere Nährböden bei der Untersuchung auf Bodenoganismen in Anwendung. So verwendet Kolkwitz Regenwurmextraktbouillon bezw. Agar und Bodenextraktgelatine oder Agar. Remy gebraucht Bodenextraktgelatine mit einem Zusatz von Infus aus 500 g Gartenerde. Kammerling verwendet Bodenextraktagar, Derotti Torfextrakt, Fischer anstelle des Bodenextrakts die Minerallösung nach A. Mayer.

Die Auszählung der Keime erfolgt nach Ablauf der Bebrütung auf schwarzer Unterlage mit bloßem Auge oder mit der Lupe, im Zweifelsfalle auch mit dem Mikroskop. Bei Auszählung von Agarplatten, bei denen leicht ein Wanderwachstum der einzelnen Bakterienkolonien auf der Oberfläche stattfindet, werden eventuell auftretende Kolonienschwärme als eine Kolonie gezählt.

Die Zahl der Platten, die angelegt wird, ist bei den einzelnen Untersuchern verschieden. Hiltner und Störmer legen zwei Platten aus der ersten Verdünnung an, Thiele macht von jeder Serie 10 Platten, ein Vorgehen, das nicht unwesentliche Kosten verursacht. Im allgemeinen dürften zwei Platten aus der ersten und zweiten Verdünnung ausreichend sein.

Außer dieser sog. Plattenmethode werden aber für die Untersuchung der Bodenprobe auf Mikroorganismen noch eine Anzahl anderer Methoden angewandt. Hier kommen besonders diejenigen in Betracht, die auf einer direkten Auszählung der Mikroorganismen ohne vorherige Anlegung von Kulturen beruhen. Cholodny macht in dem zu untersuchenden Boden senkrechte Einschnitte, in die er eine Glasplatte hineinschiebt. Nachdem die Glasplatte 1—3 Wochen sich selbst überlassen bleibt, wird sie vorsichtig herausgezogen, fixiert und mit Phenolerythresin gefärbt. Die im Laufe der Zeit erfolgte Anhäufung der verschiedenen Mikroorganismen aus dem zu untersuchenden Boden auf der Platte werden dann direkt festgestellt und ausgezählt. Winogradsky behandelt 1 g der Bodenprobe mit Wasser, zentrifugiert ab bezw. läßt die Aufschwemmung absetzen. Der Bodensatz wird für sich wie die Aufschwemmung weiter behandelt. Der Bakteriengehalt wird zum Schluß mit einfacher Färbung nachgewiesen. Der Nachteil dieser Methode liegt darin, daß auch tote Bakterien mitgezählt werden. Gray und Thornston zählen die Bakterien in einer be-

kannten Verdünnung von Bodenmaterial, die durch verschiedene Farbstoffe vorbehandelt wird, aus. Conn vermischt 0,5 g des zu untersuchenden Bodens mit 5 ccm einer im Autoklaven sterilisierten Gelatinelösung (0,15 g in 1 l destillierten Wassers) und breitet diese Mischung dann auf einem Objektträger aus. Nach Trocknen in der Wärme über dem Wasserbad werden dann einige Tropfen einer 1%igen Erythrosinlösung in 5%igem wässerigem Phenol mit Zusatz von Kalziumchlorid hinzugesetzt, der Objektträger eine Minute lang über dem Wasserbad erwärmt, dann kräftig mit Wasser abgespült, getrocknet und bei starker Vergrößerung untersucht. Winogradsky hat neuerdings ein Verfahren angegeben, das den natürlichen Bedingungen, wie sie im Boden herrschen, in besonderem Maße gerecht werden soll. Er setzt feine Bodenpartikelchen auf Kieselgallertnährböden elektiver Zusammensetzung aus; dadurch erhält er je nach Zugabe von abbaufähigen Substanzen zu der Gallerte um die Partikelchen herum fast eine Reinkultur jeder Bakterienart, die die ausgesetzte Substanz zu ihrem Stoffwechsel benötigt. Fehér verwendet anstatt Kulturböden Naturböden als Nährmedium. Die Keimzahlbestimmung erfolgt auf physikalisch-chemischem Wege durch Bestimmung der Ph-Zahl. Diese Methode eignet sich allerdings nur zur Bestimmung der Gesamtbakterienzahl.

Die Ergebnisse der Bakterienauszählung nach den verschiedenen Methoden ergeben im allgemeinen keine Uebereinstimmung der Resultate, worauf z. B. Kühlmorgen-Hille hinweist. Besonders die Methode der direkten mikroskopischen Auszählung der Bakterien liefert meist höhere Werte, da auch die toten Mikroorganismen mitgezählt werden, die besonders in saueren Böden in größeren Mengen vorhanden sein können.

Auch durch Schütteln der Bodenproben ist versucht worden, eine Trennung der Bakterien von den Bodenpartikelchen zu erreichen. Doch diese Methode ist im allgemeinen weit davon entfernt, als vollkommen bezeichnet werden zu können; denn auch hier ergibt die Zählung höhere Zahlen als die Auszählung von Plattenkulturen. Die Ursachen dürften die gleichen sein, die für die abweichenden Zählungsergebnisse der direkten Auszählungsmethoden gelten. Whittles hat allerdings einen besonderen elektrischen Vibrationsapparat zur Trennung der Bakterien und der Bodenpartikelchen angegeben, der nach seinen Angaben so vollkommen arbeitet, daß die Nachteile der Schüttelmethode beseitigt sind. Thornston glaubt dagegen, daß auch Whittles Apparat zu hohe Zahlen gibt, da er zu schwierig zu sterilisieren ist.

Was die Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen in den verschiedenen Böden betrifft, so liegen darüber eine Reihe Untersuchungen vor. Eberbach hat das Verhalten der Bakterien im Boden Dorpats studiert. Er verwandte eine Verdünnung mit sterilem Sand 1 : 20. In wenig berührtem Boden fand er an der Oberfläche eine Bakterienzahl von 525 000 in 1 ccm Erde. Die größte Keimzahl fand sich in einer Tiefe von 10—25 cm. Die Temperatur des Bodens hatte keinen Einfluß auf die Bakterienzahl. Zur Untersuchung auf Tetanuserreger wurden 18 Impfungen mit Gartenerde bei Ratten und Mäusen ausgeführt, die bei 4 Ratten und 2 Mäusen zum Tode führten. Fabricius und Feilitzen untersuchten den Bakteriengehalt des jungfräulichen und kultivierten Hochmoorbodens auf dem Versuchsfelde des schwedischen Moorkulturvereins bei Flabuhlt. Als Nährboden diente ihnen Fleischwasserpeptongelatine. Der Bakteriennachweis erfolgte nach der Methode von Hiltner und Störmer. Es ergab sich dabei, daß der Bakteriengehalt im allgemeinen nach der Tiefe zu abnimmt. Die verschiedenen Bodenarten zeigten verschiedenen Bakteriengehalt. Auch im gleichen Boden ergaben sich verschiedene Bakterienzahlen und verschiedenes Bakterienwachstum, je nach der Behandlung. Es mußten deshalb verschiedenartig zusammengesetzte Nährböden zum Vergleich verwandt werden. Ekelof hatte Studien über den Bakteriengehalt der Luft und des Erdbodens in antarktischen Gegenden angestellt. Die höchste Keimzahl fand sich in den wärmeren Monaten Dezember und Januar. Durch hohe Kältegrade werden Bakterien nicht abgetötet; sie bleiben vielmehr während der kalten Jahreszeit am Leben, ohne sich allerdings zu vermehren. Erst bei 1—12 ° erfolgt ein Wachstum.

Heinze fand bei seinen bodenbakteriologischen Untersuchungen, daß die Keimzahl in den Sommermonaten am höchsten und in den Herbst- und Frühlingsmonaten am niedrigsten ist. Wiederholtes Bearbeiten des Bodens erhöht die Keimzahl. Massen und Behn fanden eine Abnahme des Bakteriengehaltes des Bodens bei Austrocknen. Wasserzufuhr führte zu einem Wiederanwachsen der Zahl. Einen Einfluß der Jahreszeit und der Art der Bebauung auf den Bakteriengehalt des Bodens konnten sie nicht nachweisen.

Von besonderem Interesse sind die Untersuchungen, die sich mit dem Vorkommen von Tetanuserregern im Erdboden beschäftigen. Damon und Payabal, die 62 verschiedene Bodenproben aus Maryland auf ihren Gehalt an toxinbildenden Anaerobiern untersuchten, fanden 5 mal keine derartigen Organismen.

4 Proben wiesen toxinbildende Bakterien auf, die aber nicht identifiziert werden konnten, da ihre Toxine weder durch Tetanus- noch durch Botulismusantitoxin neutralisiert werden konnten. Bei allen anderen Proben konnten durch Neutralisationsversuche mit bekanntem Antitoxin Tetanus- und Botulismusbazillen festgestellt werden. Dubovsky und Meyer fanden häufig Tetanussporen in gut gedüngter, bebauter oder Gartenerde, wie auch auf pflanzlichen Nahrungsmitteln in den verschiedenen Staaten östlich des Mississippi, aus der Schweiz und aus China. Jungfräulicher Waldboden aus den östlichen Staaten wies ebenfalls Tetanussporen auf. Der Boden der Staaten westlich des Mississippi zeigte verhältnismäßig selten Tetanussporen. Lang untersuchte den Erdboden der Schweiz unter besonderer Berücksichtigung der Kantone Graubünden, Waadt und Wallis auf die Verbreitung von Tetanusbazillen. Es ergab sich aus diesen Untersuchungen, daß der Tetanusbazillus als Saprophyt allgemein in der Erde verbreitet ist. Wie Faezesproben von wild lebenden Tieren und Haustieren ergaben, kann der Tetanusbazillus auch unter gewissen Umständen zu einem fakultativen Darmparasiten werden. Mit zunehmender Höhenlage verringert sich die Existenzmöglichkeit für den Tetanusbazillus, doch schließen höhere Lagen seine Existenz durchaus nicht aus. Eine Förderung erfährt die Entwicklungsmöglichkeit für Tetanusbazillen durch die Anwesenheit von organischen in Verwesung befindlichen Stoffen und von Pflanzenteilen, die sich im Zustande der Fermentation befinden. Bisserie fand bei seinen Studien über die Ausbreitung des Tetanusbazillus im Boden, daß dieser zwar häufig anzutreffen sei, daß er aber nicht in jedem Erdboden vorkomme. Im Großen und Ganzen ist aber jeder Boden als Tetanus-verdächtig anzusehen. Beim Menschen findet man Tetanusbazillen in den Kleidern, auf der Haut, im Speichel und im Kot. Von Tieren können Pferd, Esel, Kühe, Kaninchen, Meerschweinchen und Hühner vom Boden aus infiziert werden und auch diesen ihrerseits wieder infizieren.

Die Infektion des Bodens mit Tetanusbazillen durch die Faezes des Menschen und der Tiere wird auch von anderen Forschern angenommen. Noble weist darauf hin, daß die Faezes normaler Tiere, besonders der Pflanzenfresser, häufig Tetanusbazillen enthalten. Ihr Nachweis gelingt allerdings häufig nur dann, wenn sie in verhältnismäßig großen Mengen vorhanden sind. Bei experimenteller Verfütterung können die Tetanusbazillen sich im Darm vermehren und längere Zeit erhalten bleiben, wobei jedoch individuelle Unterschiede von Bedeutung zu sein scheinen. Das Vorkommen von Tetanusbazillen in der Erde, im Staub, auf frischem

Gemüse und auf der Haut führt Noble auf eine Verunreinigung mit Faezes zurück. Kerrin fand in einer großen Zahl menschlicher Stühle keine Tetanusbazillen; dagegen fanden sich diese häufig in dem Kot der Haustiere, besonders der Hunde und auch der Ratten. Die Hälfte dieser Stämme war allerdings atoxisch. Bauer und Meyer, die 487 Stuhlproben gesunder Menschen aus Kalifornien untersuchten, fanden, daß in 24,6% der Fälle Tetanussporen vorhanden waren. Alter, Geschlecht und Beschäftigung schienen keinen nachweisbaren Einfluß auf das Vorhandensein der Tetanussporen zu haben. Auch die Untersuchungen in anderen Gebieten der Vereinigten Staaten hatten ähnliche Ergebnisse.

Bei der Bewertung der Beweiskraft experimenteller Tierinfektionen mit Tetanusbazillen oder -sporen für das Vorkommen dieser in Bodenproben dürften die Ausführungen von Wolff-Eisner und Jahr von Bedeutung sein. Sie halten den bisherigen Infektionsmodus, Erde in eine Hautfalte des Versuchstieres zu bringen, nicht für zweckmäßig, da auf diese Weise keine gleichmäßige Dosierung zu erzielen sei. Als zweckmäßig schlagen sie folgende Methode vor: Die Erde wird in einer Reibschale zu einer feinen Emulsion verrieben; diese durch gewöhnlichen Verbandmull hindurchfiltriert, so daß das Filtrat mittels Rekordspritze und mittlerer Kanüle den Versuchstieren eingespritzt werden kann, 0,1 ccm der Erdemulsion 1 : 10 tötet Mäuse unter tetanischen Erscheinungen im Verlaufe von 48—72 Stunden.

Bemerkenswert sind auch die Angaben von Coleman, dem es gelang, durch Anwendung von Formalin regelmäßiger als sonst Meerschweinchen mit Tetanuserregern zu infizieren, da durch das Formalin die Gewebe in ihrer Widerstandsfähigkeit herabgesetzt werden. Schon mit 5 Sporen gelang es ihm, beim Meerschweinchen auf diese Weise — nach vorhergehender Formalinjektion — eine Tetanusinfektion hervorzurufen.

Bei meinen Untersuchungen hielt ich mich im wesentlichen an die von Schwarz angegebenen Methoden von Hiltner und Störmer.

Die Bodenproben wurden nach der Methode von Fränken der Erdoberfläche entnommen und zwar mit sterilen Löffeln, wie sie sich in den üblich gebrauchten Stuhlpackungen befinden. Die Proben wurden sofort nach der Entnahme verwertet, oder, soweit das aus technischen Gründen nicht möglich war, auf Eis aufbewahrt.

Die Bestimmung der Keimzahl geschah nach der Plattenmethode von Hiltner und Störmer. Es wurden von jeder Erdprobe zwei Platten angelegt mit den Verdünnungen 1 : 100 und 1 : 1000, die zur Entscheidung der hier zu behandelnden Fragen vollkommen genügten, da es ja hier nur auf annähernde Werte ankam.

Die Frage der Verdünnung habe ich etwas anders gelöst, und zwar wurde ½ g Erde mit 50 cm^3 sterilem Leitungswasser in einem Glaskolben aufgeschwemmt, 200 mal geschüttelt und absitzen lassen. Das ist die erste Verdünnung, die einem Keimwert 1 : 100 entspricht. Zur Herstellung der zweiten Verdünnung 1 : 1000 wurden 0,5 cm^3 der Verdünnung aus dem Kolben mit 4,5 cm^3 sterilem Leitungswasser in einem sterilen Reagenzglas gemischt.

Auf die Nährböden wurden ausgesät:

1. 1 cm^3 aus dem Kolben (1 : 100).
2. 1 cm^3 aus dem Röhrchen (1 : 1000).

Nach dreimaligem Auszählen der Platten bekomme ich die Ergebnisse wie angeführt innerhalb 4—5 Tagen.

Zum Nachweis des Bacterium coli wurde 1 cm^3 aus dem Kolben (1 : 100) in ein Gärröhrchen gebracht und 6—7 Tage im Brutschrank bei 37 ° stehen gelassen.

Kam eine Gärung in dem Röhrchen zustande, dann wurde die Flüssigkeit auf Endoagarplatten ausgestrichen, worauf sich dann die Kolonien des Bacterium coli entwickeln konnten.

Zum Nachweis des Bacillus tetani wurden die Erdproben anhand des Tierversuches untersucht. Bei weißen Mäusen wurde auf dem Rücken mit einer scharfen Schere eine Hauttasche angebracht und mit einer sterilen Oese etwas von der Erdprobe weit unter die Haut geschoben. Die jeweils infizierten Mäuse starben nach 1—5 Tagen.

Aus dem Mitgeteilten ist zu ersehen, daß die Angaben über die Verbreitung und das Vorkommen verschiedener Bakterien im großen und ganzen bis heute recht kärgliche sind. Insbesondere fehlen so gut wie ganz Arbeiten, die sich mit den Verhältnissen des Waldbodens beschäftigen.

Die vorliegenden Untersuchungen beziehen sich gerade auf das Verhalten des Waldbodens und wurden im Schwarzwald, und zwar im Kniebisgebiet, im Kandelgebiet, im Feldberggebiet, im Belchengebiet und im Schauinslandgebiet ausgeführt.

BEFUNDE:

I.

A. Keimzahlbestimmung:

Proben 1—12.

Die Platten wurden am 27. April 1936 angesetzt aus der Gegend:

Kniebisgebiet.

Höhenzug vom Kniebis (1150 m) zum Freyersberg (900 m).
Temperatur: + 16 °.
Witterung: Sonnenschein, Schneedecke (stellenweise bis 20 cm).

Probe Nr.	Art des Waldes	Ungef. Entf. vom nächsten Waldrand m	Bodenart	Höhe m	Keimzahl
1	Schonung (3 m hoch)	100	Sand	900	12 800
2	„	300	„	930	14 200
3	„	500	„	950	9 580
4	„	50	Humus	1120	18 200
5	„	1000	„	1180	38 100
6	„	1200	„	1050	6 200
7	Hochwald	100	Lehm	980	11 500
8	„	500	Sand	1050	49 800
9	„	1000	„	1080	11 200
10	„	700	Humus	1050	36 500
11	„	50	„	1000	169 100
12	„	200	„	1100	112 300

B. Prüfung auf Bacterium coli durchweg negativ.
C. Prüfung auf Bacillus tetani durchweg negativ.

II.

A. Keimzahlbestimmung:

Proben 12—34.

Die Platten wurden angesetzt am 17. April 1936 aus der Gegend:

Kandelgebiet.

Höhe: 800—1250 m.

Temperatur: + 12 °.

Witterung: Bewölkt, Nebel, Regenfälle.

Probe Nr.	Art des Waldes	Ungef. Entf. vom nächsten Waldrand m	Bodenart	Höhe m	Keimzahl
1	Schonung (2—3 m hoch)	20	Humus	850	52 400
2	„	100	„	870	18 500
3	„	300	„	870	9 100
4	„	500	„	920	21 500
5	„	50	Sand	1080	17 900
6	„	100	„	1120	4 600
7	„	200	„	1150	7 800
8	„	150	„	900	19 900
9	„	30	Humus	1000	38 000
10	„	100	„	1050	24 000
11	„	200	Lehm	1080	15 600
12	Hochwald	100	„	800	168 400
13	„	200	„	820	67 800
14	„	500	„	850	17 500
15	„	1000	„	900	19 000
16	„	2000	„	950	87 000
17	„	3000	„	1000	28 400
18	„	50	Humus	830	122 500
19	„	100	„	880	24 800
20	„	150	„	900	186 000
21	„	30	„	1150	1 386 000
22	„	60	„	1250	850 700

Die Proben Nr. 18—22 grenzten an Viehweiden.

B. Nachweis von Bacterium coli. Bacterium coli konnte nicht nachgewiesen werden, dagegen Paracolibakterien einmal.

C. Nachweis von Bacillus tetani. Der Tetanuserreger war in 6 Fällen (= 27,2 %) aller Proben vorhanden.

III.

A. Keimzahlbestimmung:

Proben 35—79.

Die Platten wurden angesetzt am 29. April 1936 aus der Gegend:

Feldberggebiet.

Höhe: 1000—1450 m.
Temperatur: + 14 °.
Witterung: Sonnenschein, helles Wetter.

Probe Nr.	Art des Waldes	Ungef. Entf. vom nächsten Waldrand m	Bodenart	Höhe m	Keimzahl
1	Schonung (2—5 m hoch)	30	Sand	1151	10 800
2	„	50	„	1180	6 300
3	„	100	„	1200	21 100
4	„	150	„	1150	13 700
5	„	200	„	1100	9 000
6	„	50	Humus	1080	116 500
7	„	100	„	1050	27 800
8	„	300	„	1000	31 000
9	„	500	„	950	12 300
10	„	10	Sand	1250	38 100
11	„	30	„	1200	11 500
12	„	60	„	1280	8 200
13	„	20	„	1350	15 400
14	„	50	„	1375	9 800
15	„	100	„	1400	16 700
16	„	200	„	1420	10 600
17	„	10	Lehm	1000	4 500
18	„	50	„	1000	18 100

Probe Nr.	Art des Waldes	Ungef. Entf. vom nächsten Waldrand m	Boden-art	Höhe m	Keim-zahl
19	„	100	„	1050	15 300
20	„	200	„	1080	114 500
21	„	300	„	1100	19 200
22	„	350	„	1120	7 800
23	Hochwald	30	Sand	980	68 400
24	„	50	„	1000	13 300
25	„	10	„	1000	1 225 000
26	„	100	„	1050	92 000
27	„	200	Humus	1150	1 118 000
28	„	500	„	1180	193 000
29	„	1000	„	1200	76 500
30	„	1500	„	1250	114 300
31	„	2000	„	1300	18 100
32	„	3000	Lehm	1340	8 600
33	„	4000	Humus	1380	71 000
34	„	5000	„	1400	33 800
35	„	2000	Sand	1350	12 000
36	„	1000	„	1300	65 800
37	„	500	„	1280	23 000
38	„	10	Humus	950	980 000
39	„	30	„	980	1 300 000
40	„	30	„	980	188 900
41	„	200	„	1000	104 500
42	„	600	„	1050	17 800
43	„	1000	„	1100	45 000
44	„	500	„	1080	109 700

B. Prüfung auf Bacterium coli durchweg negativ.

C. Prüfung auf Bacillus tetani. Der Tetanusbacillus war nur vorhanden in der Probe Nr. 25; dieses Stück Hochwald wurde ebenfalls von einer Viehweide begrenzt.

IV.

A. Keimzahlbestimmung:

Proben Nr. 80—105.

Die Platten wurden angesetzt am 13. Mai 1936 aus der Gegend:

Belchengebiet.

Höhe: 950—1400 m.

Temperatur: + 18 °.

Witterung: Sonniges Wetter.

Probe Nr.	Art des Waldes	Ungef. Entf. vom nächsten Waldrand m	Bodenart	Höhe m	Keimzahl
1	Schonung (2—5 m hoch)	10	Lehm	1000	20 400
2	„	50	„	1050	14 800
3	„	100	„	1100	6 500
4	„	150	Humus	1120	12 800
5	„	180	„	1080	311 000
6	„	200	„	1050	15 700
7	„	50	Sand	1250	8 100
8	„	30	„	1380	7 300
9	„	100	Humus	1240	16 800
10	„	200	Lehm	1200	5 900
11	„	100	„	1350	11 600
12	„	500	„	1400	18 100
13	„	10	Sand	1450	26 500
14	Hochwald	10	Humus	1100	382 000
15	„	100	„	1120	26 900
16	„	500	„	1150	51 000
17	„	1000	„	1180	43 500
18	„	2000	„	1200	61 800
19	„	3000	„	1250	205 000
20	„	4000	„	1300	19 300
21	„	5000	„	1400	48 100
22	„	1000	Lehm	1430	36 000
23	„	500	Humus	1000	114 600
24	„	50	Sand	950	183 700
25	„	80	„	980	104 800

B. Prüfung auf Bacterium coli durchweg negativ.

C. Prüfung auf Bacillus tetani. 2 Fälle von Tetanus konnten festgestellt werden, und zwar: Nr. 14 und Nr. 24. Der Wald der Probe Nr. 24 grenzte an bebautes Ackerland.

V.

A. Keimzahlbestimmung:

Proben Nr. 106—125.

Die Platten wurden angesetzt am 18. Mai 1936 aus der Gegend:

Schauinslandgebiet.

Höhe: 900—1200 m.

Temperatur: + 12 °.

Witterung: Bewölkt, regnerisch, nebelig.

Probe Nr.	Art des Waldes	Ungef. Entf. vom nächsten Waldrand m	Bodenart	Höhe m	Keimzahl
1	Schonung (1—3 m hoch)	10	Sand	1150	19 600
2	„	50	„	1180	10 800
3	„	100	Humus	1200	13 500
4	„	30	„	900	20 400
5	„	50	„	920	17 200
6	„ (2—6 m hoch)	20	Lehm	1050	9 100
7	„	100	Humus	1080	10 400
8	„	150	„	1080	21 300
9	„	200	„	1100	17 100
10	„	300	„	1120	6 800
11	„	50	„	950	138 400
12	„	100	„	960	22 500
13	„	150	„	970	18 700
14	Hochwald	20	Sand	900	283 000
15	„	50	„	900	78 100
16	„	100	„	920	19 700
17	„	200	Humus	950	95 200
18	„	500	„	1000	148 900
19	„	1000	„	1050	123 000
20	„	2500	„	1100	55 600
21	„	400	Lehm	1180	21 000
22	„	2000	Humus	1150	281 400
23	„	1000	„	1200	69 800
24	„	50	Sand	950	2 150 000
25	„	100	Humus	960	1 815 700

B. Prüfung auf Bacterium coli durchweg negativ.

C. Prüfung auf Bacillus tetani durchweg negativ.

Deutung der Befunde.

Wenn wir nun die gewonnenen Ergebnisse analysieren, dann kommen wir zu folgenden Feststellungen:

1. Zwischen dem Verhalten des Hochwaldbodens und dem Verhalten des Bodens einer Schonung bestehen Unterschiede. Der Hochwaldboden enthält mehr Keime als der Boden einer Schonung. Zur Bestätigung dieser Feststellung seien einige Beispiele aus den Tabellen angeführt. Um einheitliche Vergleichsmöglichkeiten zu schaffen und den Einfluß der übrigen Faktoren, wie die Entfernung vom nächsten Waldrand, die Bodenart und die Höhe auszuschalten, sind nur die Ergebnisse gegenüber gestellt, bei denen die drei übrigen Faktoren annähernd die gleichen sind. So finden wir im Kniebisgebiet im sandigen Boden in einer Entfernung von 500 m vom nächsten Waldesrand und einer Höhe von 1050 m eine Keimzahl von 49 800. Für die Schonung bei 500 m Entfernung vom Waldesrand, sandigem Boden und 950 m Höhe beträgt die Keimzahl 9580. Im Kandelgebiet hatten wir eine Keimzahl im Hochwald 100 m vom Waldesrand bei 880 m Höhe und Humusboden von 24 800; für die Schonung betrug bei gleicher Entfernung, Bodenart und einer Höhe von 870 m die Keimzahl 18 500. In 50 m Entfernung, Humusboden und 830 m Höhe fand sich im Hochwald eine Keimzahl von 122 500; für die Schonung bei 200 m Entfernung vom Waldesrand, Humusboden und 850 m Höhe betrug die Keimzahl 52 400. Im Feldberggebiet fand sich im Hochwald im Humusboden 200 m vom Waldesrand in 1000 m Höhe eine Keimzahl von 104 500. In der Schonung betrug bei 300 m Entfernung vom Waldesrand, 1000 m Höhe und Humusboden die Keimzahl 31 000. Bei 600 m Entfernung vom Waldesrand, 1050 m Höhe u. Humusboden belief sich im Hochwald die Keimzahl auf 17 800. In der Schonung ergab die Bodenuntersuchung 500 m vom Waldesrand in 950 m Höhe bei Humusboden 12 300 Keime. Im Belchengebiet fand sich im Hochwald 100 m vom Waldesrand, 1120 m Höhe und Humusboden eine Keimzahl von 26 900. In der Schonung 150 m vom Waldesrand, 1120 m Höhe und Humusboden betrug die Keimzahl 12 800. Im Schauinslandgebiet fand sich im Hochwald 100 m vom Waldesrand in 960 m Höhe und Humusboden eine Keimzahl von 1 815 700; in der Schonung bei 100 m Entfernung, 960 m Höhe und Humusboden betrug die Keimzahl 22 500.

Man wird mit der Annahme nicht fehlgehen, daß der größere Keimgehalt des Hochwaldes, der aus den Ergebnissen der Tabellen einwandfrei hervorgeht, im wesentlichen dadurch bedingt ist, daß

die Schonung im Gegensatz zum Hochwald so gut wie gar nicht betreten wird.

2. Der Keimgehalt des Bodens wird wesentlich durch seine Beschaffenheit beeinflußt. Der Humusboden enthält mehr Keime als der Sandboden. Auch hier seien unter den gleichen Bedingungen (ungefähr gleiche Entfernung vom Waldesrand, gleiche Höhe und gleiche Waldart) eine Reihe von Zahlen aus den Tabellen angeführt, die diese Feststellung bekräftigen sollen.

So findet sich im Kandelgebiet in der Schonung in 50 m Entfernung vom Waldesrand bei 1080 m Höhe in sandigem Boden eine Keimzahl von 17 900; im Humusboden, in 30 m Entfernung vom Waldesrand (also fast gleich weit) bei 1000 m Höhe eine Keimzahl von 38 000. In 100 m Entfernung vom Waldesrand in 1120 m Höhe betrug in der Schonung des gleichen Gebietes und im sandigen Boden die Keimzahl 4600. Im Humusboden des gleichen Gebietes, ebenfalls 100 m Entfernung vom Waldesrand und in einer nur um weniges geringeren Höhe von 1050 m, hatten wir eine Keimzahl von 24 000. Im Feldberggebiet betrug in der Schonung 50 m vom Waldesrand in einer Höhe von 1180 m im Sandboden die Keimzahl 6300. Im Humusboden des gleichen Gebietes bei 50 m Entfernung vom Waldesrand der Schonung und in einer Höhe von 1080 m war die Keimzahl 116 500. Es ist kaum anzunehmen, daß die geringere Höhendifferenz von etwa 100 m diesen enormen Unterschied in den Keimzahlen verursachen konnte. Vielmehr dürfte die Ursache in der verschiedenen Beschaffenheit des Bodens zu suchen sein. Im Hochwaldgebiet des Feldberges betrug bei 30 m Entfernung vom Waldesrand und 980 m Höhe im Sandboden die Keimzahl 68 400. Im Humusboden, ebenfalls 30 m Entfernung vom Waldesrand und in der gleichen Höhe betrug die Keimzahl 1 360 000. Bei 50 m Entfernung und einer Höhe von 1000 m betrug im Hochwald desselben Gebietes und bei sandigem Boden die Keimzahl 13 300. Für Humusboden war bei der gleichen Entfernung vom Waldesrand, in einer Höhe von 980 m, die Keimzahl 188 900. In einer Entfernung von 2000 m vom Waldesrand und einer Höhe von 1300 m betrug im Humusboden die Keimzahl 18 100. Für den Sandboden des gleichen Gebietes und der gleichen Waldart (Hochwald) betrug bei 2000 m Entfernung und 1350 m Höhe die Keimzahl 12 000.

3. Weniger deutlich als der Einfluß der Wald- und Bodenart ist der Einfluß der Höhenunterschiede auf den Keimgehalt des Bodens aus den Versuchsergebnissen zu ersehen. Die Höhenunterschiede im Schwarzwald und insbesondere zwischen und innerhalb

der gewählten Untersuchungsgebiete sind relativ zu gering, als daß man derartige deutliche Unterschiede erwarten könnte, zudem noch andere Faktoren die Höhe der Keimzahl beeinflussen, wie die oben bereits genannten (Waldart und Bodenbeschaffenheit und die sogleich noch näher zu besprechende Entfernung vom Waldesrand). Bei der Geringfügigkeit der Höhendifferenzen dürfte deren evtl. Wirkung auf den Keimreichtum des Bodens gegenüber den genannten anderweitigen Faktoren stark zurücktreten. Immerhin kann man aus der Betrachtung der Untersuchungsergebnisse sich des Eindrucks nicht ganz erwehren, daß mit zunehmender Höhe bei annähernder Gleichheit der üblichen Bedingungen die Keimzahl abnimmt.

4. Von wesentlichem Einfluß auf den Keimgehalt des Bodens scheint die Entfernung der untersuchten Stellen vom Waldesrande zu sein. So fand sich im Kandelgebiet im Humusboden in einer Höhe von 850—870 m in einer Entfernung von 20,100 und 300 m vom Rande der Schonung eine Keimzahl von 52 400, 18 500 und 9100, also eine fortlaufende Abnahme der Keimzahl mit zunehmender Entfernung vom Waldesrande. Im Hochwald des gleichen Gebietes bei lehmigem Boden in einer Höhe von 800, 820 und 830 m betrugen die Keimzahlen bei 100, 200 und 500 m Entfernung vom Waldesrand 168 400, 67 800 und 17 500, also die gleiche Erscheinung einer Abnahme der Keimzahl mit der Entfernung vom Waldesrand. Für den Humusboden einer Schonung im Schauinslandgebiet in einer Höhe von 1080—1120 m betrugen die Keimzahlen bei einer Entfernung von 100, 150, 200 und 300 m vom Waldesrand 104 000, 21 300, 17 100 und 6 800. Im Hochwald des gleichen Gebietes in einer Höhe von 900—920 m bei Sandboden verminderten sich die Keimzahlen entsprechend der Zunahme der Entfernung von 20, 50, 100 m von 283 000 auf 78 100 und 19 700.

5. Bei der Gegenüberstellung der einzelnen Versuchsergebnisse sind absichtlich jedesmal nur diejenigen aus dem gleichen Untersuchungsgebiet herangezogen worden, um den Einfluß anderer Faktoren, wie Temperatur, verschiedene Jahreszeit, Bewölkung, Sonnenschein usw. nach Möglichkeit auszuschließen. Die vorliegenden Untersuchungen gestatten keine eindeutigen Schlußfolgerungen über die Einwirkung dieser Faktoren auf den Keimgehalt des Bodens.

6. Das Bacterium coli ließ sich in keinem Falle im Waldboden nachweisen. Dagegen fand sich im Kandelgebiet bei der Untersuchung einer Bodenprobe, die aus dem Humusboden eines Hochwaldes in 30 m Entfernung vom Waldesrand und in einer Höhe

von 1150 m genommen wurde, das Paracoli-Bacterium. Die Keimzahl des untersuchten Bodens war sehr groß; sie betrug 1 386 000. Die Entnahmestelle der Bodenprobe grenzte an eine Viehweide.

7. Tetanuserreger konnten im Kniebisgebiet und im Schauinslandgebiet in keiner der Bodenproben nachgewiesen werden. Im Feldberggebiet fand ich sie einmal in einer Bodenprobe aus einem Hochwald in 10 m Entfernung, in 1000 m Höhe bei sandigem Boden. Die Keimzahl der Bodenprobe betrug 1 225 000. Das untersuchte Stück Hochwald war von einer Viehweide begrenzt. Im Belchengebiet wurden Tetanuskeime in zwei Proben, die beide aus dem Hochwald stammten und relativ nicht weit vom Waldesrande entnommen wurden (10 bezw. 50 m), gefunden. Die eine der Entnahmestellen grenzte an bebautes Ackerland. Häufiger war der Tetanuserreger im Kandelgebiet anzutreffen; hier fand er sich in 27,2% aller Proben, von denen die meisten an Viehweiden grenzten. Es scheint somit aus diesen Ergebnissen hervorzugehen, daß das Vorkommen des Tetanuserregers durch vorhandene Aecker und Viehweiden wesentlich mit bedingt wird. Bemerkenswert ist, daß er nur im Hochwald und in keinem Falle in den nur selten begangenen Schonungen angetroffen wurde, und daß tetanuspositive Proben nur in sehr keimreichem Boden gefunden wurden.

Zusammenfassung.

Fassen wir das Ergebnis der vorliegenden Arbeit zusammen, dann kommen wir zu dem Schluß, daß die Keimzahl des Erdbodens umso geringer ist, je geringer die Infektionsmöglichkeiten desselben und je schlechter die Lebensbedingungen für die Bakterien sind. Die wenig betretene Schonung ist deshalb bakterienärmer als der stärker von Menschen und Vieh begangene Hochwald. Der Humusboden, der für die Entwicklung der Bakterien viel bessere Bedingungen bietet als der Sandboden, ist deshalb reicher an Bodenbakterien als der letztere. Mit zunehmender Höhe verschlechtern sich wohl durch Aenderung der klimatischen Verhältnisse die Lebensbedingungen für die Bakterien, so daß ihre Zahl im Boden mit der Höhenzunahme abnimmt. Doch müssen die Höhenunterschiede sicherlich recht beträchtliche sein, wenn sie gegenüber den erstangeführten Faktoren deutlich in Erscheinung treten sollen.

Das Bacterium coli scheint für gewöhnlich im Waldboden nicht vorzukommen, und selbst wenn tiefer gelegene Wasserläufe mit dieser Bakterienart verunreinigt sein sollten, darf man mit Sicherheit annehmen, daß der Waldboden selbst frei von Coli ist.

Tetanuserreger kommen im Walde nur dort vor, wo eine Verseuchung durch Ackerland und Viehweiden in Betracht kommt. Die Schonung insbesondere scheint in der Regel frei von Tetanuskeimen zu sein.

Es ist natürlich nicht möglich, aus diesen lediglich für das Hochschwarzwaldgebiet beschränkten Untersuchungen weitgehende allgemeine Schlüsse auf das Verhalten der Bodenbakterien und insbesondere der Bakterien coli und der Tetanuserreger im Waldboden zu ziehen. Weiteren Untersuchungen in anderen Gebieten muß es vorbehalten bleiben, die Frage zu klären, inwieweit diese im Hochschwarzwald gewonnenen Untersuchungsergebnisse allgemeine Gültigkeit beanspruchen dürfen.

Zuletzt erfülle ich noch die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Nissle für die Anregung, die er mir zu dieser Arbeit gab, wie für die gütige Ueberlassung des Themas, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Schrifttum.

Bakay, L. v., und Klimko, D. v., Zur Tetanusfrage. Bruns Beitr. **161** 574 (1935).

Bauer, J. H., und Meyer, K. F., Menschliche Tetanussporenträger in Kalifornien. J. inf. Dis. **38** 295 (1926).

Bisserie, F., Untersuchungen über das Vorkommen der Tetanubazillen. Thése de Paris. 1894.

Bodewig, H., Das Vorkommen des Tetanus im Rheinland in der Friedenspraxis und die Bekämpfung desselben. Beitr. Klin. Chir. **139** 430 (1927).

Bruce, D., Tetanus, Untersuchung von 1458 FäJen in Heimatlazaretten während der Jahre 1914—1918. J. of. Hyg. **29** 1 (1920).

Cholodny, N., Ueber eine neue Methode zur Untersuchung der Bodenmikroflora. Arch. Mikrobiol. **1** 620 (1930).

Colemann, G., Experimentelle Infektion mit Tetanussporen, Amer. J. Hyg. **9** 57 (1929).

Conn, H., Ueber die mikroskopische Methode der Bakterienauszählung im Erdboden. Soil. Sci. **26** 257 (1928).

Dubovsky, B., und Meyer, K. F., Das Vorkommen der Tetanusbazillen im Erdboden und auf pflanzlichen Nahrungsmitteln. J. inf. Des. **31** 614 (1922).

Ekelof, E., Studien über den Bakteriengehalt der Luft und des Erdbodens der antarktischen Gegenden, ausgeführt während der schwedischen Südpolexpedition 1901—1904. Z. Hyg. **56** 344 (1908).

Fabricius, O., und Feilitzen, H. v., Ueber den Gehalt an Bakterien im jungfräulichen und kultivierten Hochmoorboden auf dem Versuchsfelde des schwedischen Moorkulturvereins in Flahult. Zbl. Bakter. Abt. II. **14** 162 (1906).

Fehér, O., Die Verwendung der elektrischen Ph-Messung zur quantitativen Ermittlung der Keimzahl des Bodens. Arch. mikrobiol. **4** 257 (1933).

Fülles, P., Bakteriologische Untersuchungen des Bodens und der Umgebung von Freiburg. Hyg. Rdsch. **1891**, S. 823.

Eberbach, O., Ueber das Verhalten der Bakterien im Boden Dorpats. Hyg. Rdsch. **1891** 252.

Gray, D., und Thornston, H., Feststellung der Bakterienzahl des Bodens bei direkter Auszählung. Nature **1928** 400.

Heinze, B., Bodenbakteriologische Untersuchungen. Arb. aus der Agrikulturchem. Versuchsstation, Halle a. S. **1910** H. 3.

Hill, E. W., Tetanus. Proc. Canal Zone med. Ass. 1909/10 151.

Kerrin, J., Die Häufigkeit des Vorkommens von Tetanusbazillen im Darmkanal der Tiere. Brit. J. exp. Path. 10 370 (1929).

Kühlmorgen-Hille, G., Vergleichende Prüfung der Methoden zur Ermittlung der Keimzahl im Boden. Zbl. Bakter. Abt. II. 74 Nr. 24/26 (1928).

Kunz, H., Ueber das Vorkommen von Wundstarrkrampf in Oesterreich. Wien. Klin. Wschr. 1934 653.

Lang, W., Ueber die Verbreitung des Bac. tetani Nicolaier im Erdboden der Schweiz unter spezieller Berücksichtigung der Kantone Graubünden, Waadt und Wallis und der Höhenverbreitung. Schweiz. Arch. Tierheilk. 70 249 und 296 (1928).

Loewe, O., Die Tetanusprophylaxe in ihrer Abhängigkeit von georgraphischen und geologischen Verhältnissen. Med. Welt 1932 1813.

Maassen und Behn, Zur Kenntnis der bakteriellen Bodenuntersuchungen. Arb. aus d. biol. Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft 11 399 (1932).

Madelung, Ueber Tetanus bei Kriegsverwundeten. M. m. W. 1914 2241.

Noble, W., Experimentaluntersuchungen über die Verbreitung und das Vorkommen des Tetanusbazillus. J. inf. Dis. 16 13 (1915).

Pribam, H., Ueber Kriegstetanus. Prager med. Wschr. 1915 101.

Schaer, H., Tetanusprophylaxe und Serumkrankheit. Schweiz. med. Wschr. 1934 791.

Schwarz, L., Methoden zum Nachweis von Bodenorganismen. Hamburg. Kraus und Uhlenhut: Handb. der mikrob. Technik, Bd. 3.

Thornston, H., Ueber die Witthles'sche Schüttelmethode zur Erzielung eines Bakteriensuspensuri aus einer Erdprobe.

Whittles, C. L., Die Bestimmung der Bakterienzahl des Erdbodens. J. of. agricult. Sci. 13 18 (1923).

Winogradsky, S., Die direkten Methoden zur Untersuchung der Mikrobiologie des Bodens und ihre Anwendung zum Studium der Stickstoffixation. Soil. Sci. 25 37 (1928).

Winogradsky, S., Ueber die mikroskopische Bodenuntersuchung. C. r. Acad. Sci. Paris. 179 Nr. 7 367 (1924).

Wolff-Eisner, A., und Jahr, J., Ueber die Dosierung der experimentellen Tetanusinfektion und ihre Bedeutung für die Serumtherapie. M. m. W. 1926 1231.

Young, Matthew, Die geographische Verbreitung des Tetanus in England und Wales. Beitr. Klin. Chir. 139 430 (1927).

Lebenslauf.

Am 6. Oktober 1911 wurde ich, Karl Drescher, als Sohn des verstorbenen Bäckermeisters Wilhelm Drescher und seiner Ehefrau Henriette geb. Itz, zu Waldgirmes geboren. Nach dem Besuch der Volksschule in meinem Heimatort und der Deutschen Oberschule in Wetzlar legte ich Ostern 1932 die Reifeprüfung dortselbst ab und wandte mich dem Studium der Zahnheilkunde zu. Nach bestandener Vorprüfung in Marburg studierte ich dann in Freiburg im Breisgau, wo ich im Dezember 1935 meine Approbation als Zahnarzt erhielt.